

THESIS

MUNICH

1965

**Über die Extraktion von
Acetacetat und β -Hydroxybutyrat durch den
menschlichen Herzmuskel unter
physiologischen Stoffwechselbedingungen**

Dieter Maas

**Über die Extraktion von
Acetacetat und β -Hydroxybutyrat durch den
menschlichen Herzmuskel unter
physiologischen Stoffwechselbedingungen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Dieter Maas
aus Berlin

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv.-Doz. Dr. W. RUDOLPH
Korreferent:	Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL
Dekan:	Prof. Dr. O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 28.4.1965

INHALT

I. EINLEITUNG

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Material
2. Acetacetatbestimmung nach Walker
3. Acetacetatbestimmung nach Williamson,
Mellanby und Krebs
4. β -Hydroxybutyratbestimmung nach Williamson,
Mellanby und Krebs
5. Weitere Bestimmungen
6. Statistische Berechnungen

III. ERGEBNISSE

IV. DISKUSSION

V. ZUSAMMENFASSUNG

VI. LITERATUR



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG

Als Gerhard (22) 1865 Acetessigsäure im Harn von Diabetikern entdeckte, war der Anstoss für Untersuchungen über die Bedeutung dieses Substrats für den menschlichen Organismus gegeben. Nach den Ergebnissen von Embden und Mitarbeitern (17, 18) wird Acetacetat in der Leber gebildet. Ein Abbau findet dort nicht statt (19, 52, 44). Es erfolgt lediglich eine teilweise Reduktion zu β -Hydroxybutyrat. Da diese beiden Substrate an das Blut abgegeben werden, ergab sich die Frage, ob sie als Stoffwechselendprodukte ausgeschieden werden oder ob sie zu CO_2 und H_2O oxydiert werden können.

Snapper und Grünbaum (50) wiesen an Hand von Durchströmungsversuchen mit Tierextremitäten nach, dass ein grosser Prozentsatz des im Durchströmungsmedium enthaltenen Acetacetats von der Muskulatur verbrannt wird. Diese Ergebnisse führten zu der Frage, ob auch der Herzmuskel in der Lage ist, Acetacetat und β -Hydroxybutyrat für seinen Stoffwechsel zu verwerten. Dies konnte im Tierexperiment am Herz-Lungen-Präparat (3, 55) nachgewiesen werden. Die Voraussetzung, den Stoffwechsel des menschlichen Herzmuskels in vivo näher zu untersuchen, bildeten die Arbeiten von Goodale und Mitarbeitern (23) über die Technik der Coronarsinus-Sondierung. Es zeigte sich, dass man ohne dem Patienten zu schaden die Spitze des Katheters in den Sinus coronarius bringen kann. Hierdurch kann mit Hilfe der Stickoxydulmethode (5) die Koronardurchblutung bestimmt werden. Blutentnahmen aus dem Sinus coronarius und einer grossen Arterie ermöglichen die Bestimmung der arteriellen und koronarvenösen Konzentrationen der einzelnen Substrate. Auf Grund dieser Werte können bei einem "steady state" die Extraktionen durch den Herzmuskel berechnet werden (58, 28).

Nach den Ergebnissen der letzten Jahre werden vom Herzmuskel Glukose, Milchsäure, Brenztraubensäure, Aminosäuren und vor allem nichtveresterte Fettsäuren extrahiert. Die ersten Untersuchungen über den Ketonkörperstoffwechsel (Acetacetat + β -Hydroxybutyrat) des menschlichen Herzmuskels wurden von Bing und Mitarbeitern (8) vorgenommen. Mit Hilfe der Methode von Greenberg und Lester (26) bestimmten sie die Extraktion der Gesamtketonkörper. Dabei fand sich eine Aufnahme von Ketonkörpern durch den Herzmuskel.

Ergebnisse, wie sich die beiden Substrate dabei im einzelnen verhalten, liegen bisher nicht vor. Es war deshalb Aufgabe dieser Arbeit, die Extraktionsgrössen und Extraktionsverhältnisse von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat getrennt zu untersuchen, und die Bedeutung dieser beiden Substrate für den Myocardstoffwechsel zu diskutieren.

II. MATERIAL UND METHODEN

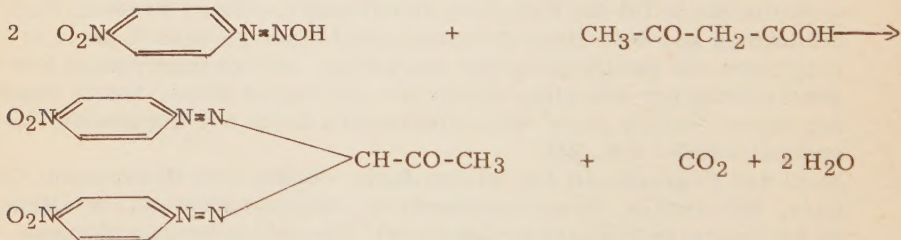
1. MATERIAL

Für die Stoffwechseluntersuchungen wurde insgesamt 55 Patienten während diagnostischer Herzkatheterisationen gleichzeitig Blut aus dem Sinus coronarius und einer grossen Arterie entnommen. Bei keinem der Patienten, die seit mindestens 12 Stunden keine Nahrung mehr zu sich genommen hatten, bestand ein Anhalt für eine pathologische Erhöhung der Ketonkörper im Blut, wie es z.B. beim Diabetes mellitus der Fall ist. Die Ergebnisse können folglich als Konzentrationen und Extraktionen unter physiologischen Stoffwechselbedingungen gewertet werden.

2. ACETACETATBESTIMMUNG NACH WALKER (54)

a) Prinzip:

Dieser colorimetrischen Methode liegt die Reaktion von Acetacetat mit dem Diazoniumsalz des p-Nitroanilin (=Diazoreagens) zugrunde:



Bei dieser Reaktion entsteht das N-N'-Di-(p-nitrophenyl)-C-acetylformazan. Das Formazan ist ziemlich beständig. Der Farbstoff wird mit Äthylacetat extrahiert und bei einer Wellenlänge von 436 μ im Photometer Eppendorf gemessen. Das Absorptionsmaximum für diesen Farbstoff liegt bei 440 μ . Um störende Nebenreaktionen zu eliminieren, wird zu jedem Messwert ein Blindwert getestet. Dieser enthält den gleichen Ansatz wie der Messwert, wird jedoch vor Beginn der Farbreaktion 5 Minuten bei stark saurem pH-Wert im siedenden Wasserbad erhitzt. Hierbei wird das vorhandene Acetacetat zerstört, nicht aber die störenden Substanzen. Der Blindwert wird vom Messwert abgezogen. Auf diese Weise erhält man den Extinktionswert für Acetacetat. Dieser wird auf die Konzentration des Acetacetat im Blut mit Hilfe der Formel, die aus der Eichkurve hervorgeht, umgerechnet.

b) Durchführung der Substratbestimmung:

Die Enteiweissung erfolgt unmittelbar nach der Blutentnahme, um eine nicht-enzymatische Dekarboxylierung von Acetacetat zu vermeiden, die vom Blut beschleunigt wird (bei Inkubation von Blut mit 1 μ Mol Acetacetat/ml zerfallen in einer Stunde bei 37°C 40 % der Ketosäure). Walker (54) sieht für 1 ml Blut 4 ml einer 6,25%igen Trichloressigsäure (TCE) vor. Um bei den Untersuchungen nicht an der unteren Grenze des durch diese Methode Messbaren zu arbeiten, wurden von uns zur Denaturierung von 4 ml Blut 4 ml einer 10%igen TCE verwandt. Das Gemisch aus Blut und Trichloressigsäure wird nach gründlichem Schütteln 10 Minuten lang zentrifugiert. Der ziemlich klare Überstand wird nochmals 5 Minuten zentrifugiert, um auch die letzten Enteiweissungskonglomerate zu sedimentieren. Die Bestimmung des Acetacetatgehaltes des Überstandes geschieht direkt nach der Aufbereitung, um eine spontane Dekarboxylierung zu Aceton und Kohlendioxyd zu vermeiden.

Dabei setzt man zu 1,0 ml Überstand 1,0 ml eines 1.4 molaren Natriumacetat-Essigsäure-Puffers hinzu, der einen pH-Wert von 5,3 haben muss. Vor dem Gebrauch ist der Puffer im Eisbad zu kühlen. Die Farbreaktion beginnt mit der Zugabe von 3,0 ml Diazoreagens. Sie dauert genau 30 Minuten und erfolgt bei Zimmertemperatur, also bei etwa 22°C. Durch Zusatz von 2,0 ml 5 normale Salzsäure wird die Farbentwicklung beendet. Darauf wird das gebildete Formazan mit 5,0 ml Äthylacetat durch gutes Umschütteln extrahiert. Der Verschluss des Reagensglases mit einem Stöpsel verhindert ein Verdunsten des Äthylacetat.

Beim Blindwert muss das Acetacetat vor Zugabe des Puffers durch 5 Minuten langes Erhitzen im siedenden Wasserbad zerstört werden. Die weitere Durchführung erfolgt wie oben angegeben.

Die Farbreaktion benötigt einen pH-Wert von 4,9 - 5,0. Liegt er ausserhalb dieses Bereiches, so wird die Reaktion empfindlich gestört. Der pH-Wert ist deshalb bei jedem Versuch zu kontrollieren.

Die Extinktionsbestimmung des mit Äthylacetat extrahierten Formazan wird mit 20 mm Schmalküvetten bei einer Wellenlänge von 436 m μ im Photometer Eppendorf durchgeführt. Die Schmalküvetten sind vor jeder Messung mit Äthylacetat zu reinigen und zu trocknen.

Herstellung des Diazoreagens:

p-Nitroanilin, 0,05 %ig (Gew./Vol.)	in 0,05 n HCl	20,0 ml
Natriumnitrat, 0,5 %ig		3,0 ml
Natriumacetat, 0,2 molar		7,0 ml

In dieser Reihenfolge wird die Herstellung des Reagens im Eisbad durchgeführt. Die Natriumnitritlösung muss jedesmal kurz vor dem Gebrauch frisch angesetzt werden. Durch die schnell erfolgende Diazotierung entsteht eine beinahe farblose Lösung des verhältnismässig beständigen Diazoniumsalzes des p-Nitroanilin. Die Zugabe des Na-

triumacetat bringt das Reagens auf einen pH-Wert von 4. Dies bedingt eine Herabsetzung der Beständigkeit, so dass eine dauernde Kühlung im Eisbad bis zur Verwendung notwendig ist.

c) Eichkurve:

Acetacetat wird durch vollkommene Hydrolyse aus Äthylacetacetat nach der Methode von Ljunggren (42) hergestellt. Die Entfernung des Äthanol durch Vakuumdestillation ist dabei nicht erforderlich, da dieses die Farbreaktion des Acetacetat nicht stört (54). Das Hydrolysat wird mit Salzsäure neutralisiert und bei -18°C aufbewahrt. Die manometrische Standardisierung der Acetacetatlösung erfolgt mit Hilfe des Warburg-Gerätes. Hierfür wird die Methode von Edson (16) benutzt. Er gibt an, dass Anilin und andere primäre Amine die Fähigkeit besitzen, die spontane Dekarboxylierung der β -Ketosäuren zu beschleunigen. Anilincitrat bewirkt diese Dekarboxylierung in noch viel grösserem Masse. Dadurch wird es möglich, die Reaktion bei der niedrigen Temperatur von 25°C ablaufen zu lassen (16). Es entstehen dabei aus $1,0 \mu\text{Mol}$ Acetacetat $22,4 \mu\text{l}$ Kohlendioxyd. Die standardisierte Acetacetatlösung wird mit 3%iger Trichloressigsäure im Verhältnis 1:50 verdünnt und zur Bestimmung der Eichkurve für die Methode von Walker (54) herangezogen.

Eichkurve

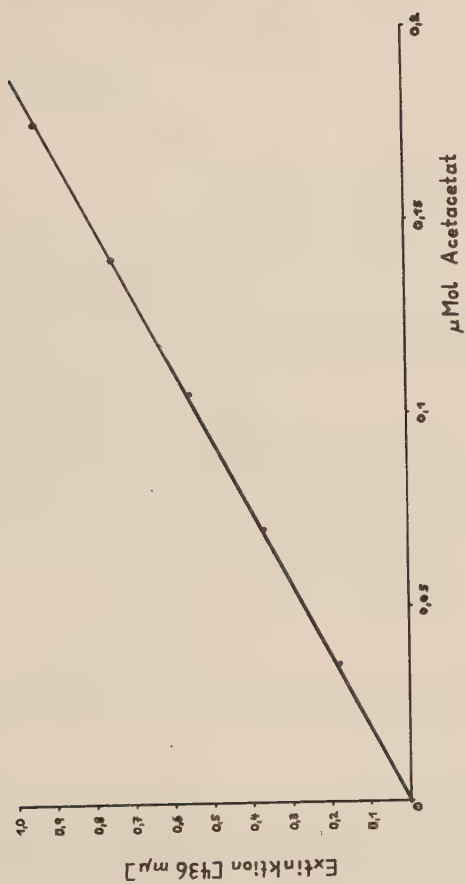


ABBILDUNG 1

d) Berechnung:

Unter Berücksichtigung der verschiedenen Arbeitsgänge und des Extinktionskoeffizienten für Acetacetat unter Testbedingungen ergibt sich für die Berechnung der Acetacetatkonzentration im Blut folgende Formel:

$$\mu \text{ Mol Acetacetat/ml Blut} = \frac{X \times K \times G}{B} \quad \mu \text{ Mol/ml}$$

Zeichenerklärung:

X : $E_{436} \times 10^3$ (E = Extinktion);

K : $9,275 \times 10^{-5}$ (μMol), Extinktionskoeffizient, geht aus der Eichkurve hervor.

G : Gesamtvolumen (ml), 4 ml TCE + eingesetzte Blutmenge (ml).

B : Eingesetzte Blutmenge (ml).

In dieser Formel ist nur K konstant, alle anderen Grössen sind veränderlich. G und B sind leicht unterschiedlich, da nicht immer genau 4 ml Blut eingesetzt werden. Die Blutmenge wird durch Zurückwiegen genau bestimmt. 1,06 g Blut entsprechen dabei 1,0 ml.

Berechnungsbeispiel:

B : 4,05 ml ; G : 8,05 ml ; X : 150.

$$\begin{aligned} \text{Acetacetat } (\mu \text{ Mol/ml}) &= \frac{150 \times 9,275 \times 10^{-5} \times 8,05}{4,05} \quad (\mu \text{ Mol/ml}) \\ &= 0,0277 \quad (\mu \text{ Mol/ml}) \end{aligned}$$

1 ml Blut enthält also 0,0277 $\mu \text{ Mol}$ Acetacetat.

3. ENZYMATISCHE BESTIMMUNG VON ACETACETAT IM BLUT NACH WILLIAMSON, MELLANBY UND KREBS (57)

a) Prinzip:

D-(-)- β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase katalysiert die reversible Reaktion (40, 41):



Die Gleichgewichtskonstante dieser Reaktion ist $K(\text{H}^+) = 1,45 \times 10^{-9}$ bei 25°C . Bei einem pH-Wert von 7,0 und überschüssigem DPNH wird Acetacetat zu mindestens 98 % reduziert unter gleichzeitiger Oxydation einer äquivalenten Menge DPNH. Gemessen wird die Abnahme der DPNH-Extinktion bei einer Wellenlänge von 366 m μ .

b) Durchführung der Bestimmung:

Reagentien:

- I. Phosphatpuffer (0,1 M ; pH = 7,0):
 - a) 13,6 g KH_2PO_4 in 1000 ml Aqua dest. lösen.
 - b) 17,4 g K_2HPO_4 in 1000 ml Aqua dest. lösen.
 Die Lösungen a) und b) werden im Verhältnis 39 : 61 gemischt und der pH-Wert geprüft.
- II. Perchlorsäure : 30%ig (w/v).
- III. Kaliumhydroxyd-Lösung : 20%ig (w/v).
- IV. Universal-Indikator (Firma Merck, Darmstadt).
- V. Reduziertes Diphosphopyridinnucleotid (DPNH) : 10 mg DPNH-"Boehringer" in 1 ml Aqua dest. lösen.
- VI. D(-)- β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (β -HBDH) (aus *Rhodospseudomonas spheroides*) : β -HBDH "Boehringer"-Suspension mit 5 mg Enzymprotein/ml- unverdünnt verwenden.
- VII. Laktat-Dehydrogenase/Malat-Dehydrogenase (LDH/MDH) (je 0,5 mg Enzymprotein/ml) : 0,1 ml LDH "Boehringer" mit 1,0 ml MDH "Boehringer" mischen.

Die Enteiweissung und die Aufbereitung erfolgt nun ebenso wie bei der β -Hydroxybutyrat-Bestimmung (Seite 13).

Die Messung wird bei einer Wellenlänge von 366 m μ im Photometer Eppendorf vorgenommen. Die Schichtdicke beträgt 20 mm (wird auf 10 mm umgerechnet). Das Messvolumen beträgt 6,2 ml.

Küvetteninhalt:

Probe	4,0 ml
Phosphatpuffer-Lösung (I)	2,0 ml
DPNH-Lösung (V)	0,1 ml
LDH/MDH (VII)	0,05 ml
Gesamtvolumen	6,15 ml

Wegen der möglichen Verunreinigung der β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase mit Laktat- und Malat-Dehydrogenase ist es notwendig, das im Blut vorhandene Pyruvat und Oxalacetat vor der Acetacetat-Bestimmung zu hydrieren. Dies geschieht durch Zugabe von LDH/MDH. Nach 5 Minuten wird die Extinktion (E_1) gemessen. Nun werden 0,05 ml β -HBDH-Lösung hinzugegeben und der Küvetteninhalt gut gemischt. In Abständen von 5 Minuten werden die Extinktionswerte abgelesen bis sich nach etwa 30 Minuten der konstante Endwert (E_2) ergibt.

c) Berechnung:

Unter den hier beschriebenen Bedingungen wird Acetacetat unter Abnahme einer äquivalenten Menge DPNH reduziert.

Es ergibt sich:

$$\frac{\Delta E \times 6,2}{3,3 \times 2} = 0,939 \times \Delta E = \mu \text{ Mol Acetacetat} / \text{Testansatz}$$

Zeichenerklärung:

$\Delta E = E_2 - E_1$;

6,2 = Testvolumen (ml);

3,3 = Extinktionskoeffizient von DPNH bei 366 m μ ;

2 = Umrechnung von 20 auf 10 mm Küvette (Schichtdicke);

Bei der Berechnung der Blutkonzentration sind die verschiedenen Arbeitsgänge bis zur enzymatischen Testung zu berücksichtigen. Die obige Gleichung muss hierfür mit folgendem Faktor (F) multipliziert werden:

$$F = \frac{G \times (U + T)}{B \times U \times P}$$

Zeichenerklärung:

G : Blut + Perchlorsäure (ml).

B : eingesetzte Blutmenge (ml).

U : Überstand nach der Enteiweissung (ml).

T : benötigte Kaliumhydroxyd-Lösung (ml).

P : eingesetzte Probe (ml).

Formel für die Berechnung der Blutkonzentration:

$$\frac{F \times 0,939 \times \Delta E}{\mu \text{ Mol Acetacetat} / \text{ml Blut}}$$

Berechnungsbeispiel:

G = 20 ml ; B = 10 ml ; U = 14 ml ; T = 7,11 ml ; P = 4,0 ml ;

$\Delta E_{366} = 0,086$.

$$F = \frac{20 \times (14,0 + 7,11)}{10 \times 14,0 \times 4,0} = 0,754$$

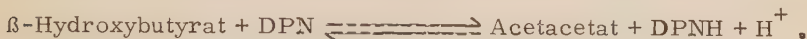
$$F \times 0,939 \times \Delta E = 0,754 \times 0,939 \times 0,086 = 0,061$$

Bei diesem Versuch sind 0,061 μ Mol Acetacetat in 1 ml Blut enthalten.

4. ENZYMATISCHE BESTIMMUNG DER D(-)- β -HYDROXYBUTTERSÄURE IM BLUT NACH WILLIAMSON, MELLANBY UND KREBS (57).

a) Prinzip:

β -Hydroxybuttersäure-Dehydrogenase katalysiert die reversible Umwandlung von Acetacetat in β -Hydroxybutyrat:



Bei einem pH-Wert von 8,5 wird β -Hydroxybutyrat zu 40 % zu Acetacetat oxydiert. Wird das gebildete Acetacetat als Hydrason abgefangen, so verläuft die Reaktion vollständig von links nach rechts. Die dabei oxydierte Menge β -Hydroxybutyrat wird durch die Zunahme der DPNH-Extinktion bei einer Wellenlänge von 366 m μ im Photometer gemessen.

b) Durchführung der Bestimmung:

Reagentien:

- I. Trispuffer (Tris-hydroxymethyl-aminomethan):
0,1 molar ; pH = 8,5.
- II. Hydrazinpuffer: 1 ml Hydrazinhydrat (100%ig) + 5 ml 1 n Salzsäure mit Aqua dest. auf 20 ml auffüllen ; pH = 8,5.
- III. Perchlorsäure: 30%ig (w/v).
- IV. Universal-Indikator (Firma Merck, Darmstadt).
- V. Kaliumhydroxyd: 20%ig (w/v).
- VI. Diphosphopyridinnucleotid (DPN) : 20 mg DPN "Boehringer" mit 1,0 ml Aqua bidest. lösen (0,025 molares DPN).
- VII. Natriumsalz der DL- β -Hydroxybuttersäure.
- VIII. D(-)- β -Hydroxybuttersäure-Dehydrogenase (β -HBDH) (aus Rhodopseudomonas spheroides): β -HBDH "Boehringer" - Suspension mit 5 mg Enzymprotein/ ml unverdünnt verwenden.

Die DPN-Lösung wird bei -15°C aufbewahrt. Die Enzymlösung hält sich bei 2 bis 4°C mindestens einen Monat. Die Hydrazinlösung muss jeden Tag frisch hergestellt werden. Die übrigen Lösungen bei Raumtemperatur verschlossen aufbewahren.

Das Blut wird sofort nach der Entnahme enteiweissst. Dabei werden 10 ml Perchlorsäure-Lösung (III) in ein Zentrifugenglas pipettiert und im Eisbad gekühlt. Dann erfolgt die Zugabe von 10 ml kaltem (2 bis 4°C), heparinisiertem Blut. Das Ganze wird mit einem dünnen Glasstab gut gemischt. Nun 10 Minuten im Eisbad stehenlassen und dann 10 Minuten lang bei 3000 g zentrifugieren, so dass die Enteiweissungskonglomerate sedimentiert werden. Der Überstand wird daraufhin dekantiert und sein Volumen gemessen. Zusatz von 0,005 ml

Universal-Indikator. Nun wird langsam Kaliumhydroxyd-Lösung (V) zugefügt bis die Farbe von rot nach grün bis blaugrün ($\text{pH} \approx 7-8$) umschlägt, um die überschüssige Perchlorsäure durch Fällung des Kaliumsalzes zu entfernen. Das Volumen des benötigten Kaliumhydroxyd wird notiert. Jetzt erfolgt die erneute Kühlung im Eisbad für etwa 30 Minuten. Dann 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren und den Überstand dekantieren und temperieren. Mit ihm kann nun die Bestimmung durchgeführt werden.

Die Messung wird bei einer Wellenlänge von 366 μ im Photometer Eppendorf vorgenommen. Die Schichtdicke beträgt 20 mm (wird auf 10 mm umgerechnet). Es ergibt sich ein Messvolumen von 6,25 ml.

Küvetteninhalt:

Probe	3,0 ml
Hydrazinlösung (II)	2,0 ml
Trispuffer (I)	1,0 ml
DPN-Lösung (VI)	0,2 ml
Gesamtvolumen	6,2 ml

Gut mischen und alle 2 Minuten die Extinktion ablesen bis der Anfangswert konstant ist (E_1). Nun werden 0,05 ml Enzymlösung (VIII) hinzugegeben. Somit ergibt sich ein Endvolumen von 6,25 ml. Während der Reaktion, die 40 bis 60 Minuten dauert, wird die Extinktion alle 10 Minuten abgelesen. Konstanter Endwert: E_2 .

c) Berechnung:

Unter den hier beschriebenen Bedingungen wird β -Hydroxybutyrat unter Bildung einer stöchiometrischen Menge DPNH oxydiert. Es ergibt sich:

$$\frac{\Delta E \times 6,25}{3,3 \times 2} = 0,947 \times \Delta E = \mu \text{ Mol } \beta\text{-Hydroxybutyrat/Testansatz}$$

Zeichenerklärung:

$$\Delta E = E_2 - E_1 ;$$

$$6,25 = \text{Testvolumen (ml)} ;$$

$$3,3 = \text{Extinktionskoeffizienz von DPNH bei 366 } \mu ;$$

$$2 = \text{Umrechnung von 20 auf 10 mm Küvette (Schichtdicke)}.$$

Bei der Berechnung der Blutkonzentration sind die verschiedenen Arbeitsgänge bis zur enzymatischen Testung zu berücksichtigen. Die obige Gleichung muss hierfür mit folgendem Faktor multipliziert werden:

$$F = \frac{G \times (U + T)}{B \times U \times P}$$

Zeichenerklärung:

G : Blut + Perchlorsäure (ml).

B : eingesetzte Blutmenge (ml).

U : Überstand nach der Enteiweissung (ml).

T : benötigte Kaliumhydroxyd-Lösung (ml).

P : eingesetzte Probe (ml).

Formel für die Berechnung der Blutkonzentration:

$$\underline{F \times 0,947 \times \Delta E = \mu \text{ Mol } \beta\text{-Hydroxybutyrat/ ml Blut}}$$

Berechnungsbeispiel:

G = 20 ml ; B = 10 ml ; U = 14 ml ; T = 7,11 ml ; P = 3,0 ml ;

$\Delta E_{366} = 0,193$.

$$F = \frac{20 \times (14,0 + 7,11)}{10 \times 14,0 \times 3,0} = 1,005$$

$$F \times 0,947 \times \Delta E = 1,005 \times 0,947 \times 0,193 = 0,184$$

Bei diesem Versuch sind 0,184 μ Mol β -Hydroxybutyrat in 1 ml Blut enthalten.

5. WEITERE BESTIMMUNGEN

- a) Die Analysen auf Sauerstoff und Kohlendioxyd erfolgten nach der Methode von van Slyke und Neill (49).
- b) Glukose wurde mit Hilfe von Hexokinase und Glukose-6-Phosphatase enzymatisch bestimmt (48).
- c) Mit Hilfe der Laktat-Dehydrogenase erfolgte die Bestimmung von Laktat und Pyruvat (11, 31).
- d) Die nicht veresterten Fettsäuren wurden nach der Methode von Dole und Meinertz (15) bestimmt.
- e) Nach Chapelle und Luck (14) erfolgte die Bestimmung der Aminosäuren.

Auf methodische Einzelheiten wird hier nicht eingegangen, da die aufgeführten Bestimmungen bereits routinemässig im Laboratorium durchgeführt wurden.

6. STATISTIK

Bei der statistischen Auswertung wurden die Mittelwerte und deren mittlere Fehler berechnet. Im Falle von Korrelationen wurden die Regressionsgraden und der Korrelationskoeffizient (r) bestimmt. Korrelations- und Regressionskoeffizienten wurden auf signifikante Änderungen (Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5 %) hin untersucht. Dies wurde mit Hilfe des t-Testes ermittelt.

III. ERGEBNISSE

Wie aus der Tabelle I hervorgeht, konnte Acetacetat bei allen Untersuchungen im arteriellen Blut nachgewiesen werden. Die Konzentrationen sind dabei bei den einzelnen Patienten sehr unterschiedlich und liegen zwischen 0,51 und 24,74 μ Mol pro 100 ml Blut. Der Mittelwert beträgt $7,2 \pm 0,66 \mu$ Mol/100 ml Blut.

Die entsprechenden Konzentrationen im koronarvenösen Blut sind deutlich erniedrigt. Bei Werten zwischen 0,08 und 12,78 μ Mol/100 ml ergibt sich ein Mittelwert von $3,6 \pm 0,36 \mu$ Mol pro 100 ml Blut. Daraus ergibt sich, dass der Herzmuskel einen beträchtlichen Teil des ihm angebotenen Acetacetates aus dem Blut aufgenommen hat. Die Extraktionen konnten bei allen Patienten nachgewiesen werden und lagen zwischen 0,18 und 11,96 μ Mol/100 ml Blut. Im Durchschnitt wurden $3,6 \pm 0,36 \mu$ Mol/100 ml vom menschlichen Herzmuskel aufgenommen. Das sind 50 % des arteriellen Angebotes. Wie aus der Abbildung 2 ersichtlich ist, besteht unter physiologischen Bedingungen für Acetacetat eine Abhängigkeit zwischen arterieller Konzentration und myocardialer Extraktion.

Substrat	arteriell	koronarvenös	Extraktion
β -Hydroxybutyrat	$21,3 \pm 2,6$	$13,8 \pm 1,7$	$7,5 \pm 1,2$
Acetacetat	$7,2 \pm 0,66$	$3,6 \pm 0,36$	$3,6 \pm 0,36$

TABELLE II

Mittelwerte der β -Hydroxybutyrat- und Acetacetatkonzentrationen (μ Mol/100 ml) im arteriellen und koronarvenösen Blut und die Extraktionen durch den Herzmuskel bei 30 bzw. 55 Patienten.

HK-Nr.	Acetacetat ($\mu\text{Mol}/100\text{ ml}$)			β -Hydroxybutyrat ($\mu\text{Mol}/100\text{ ml}$)		
	A	Vc	E	A	Vc	E
72/62	4,59	1,83	2,76	-	-	-
111/62	3,63	1,45	2,18	-	-	-
114/62	1,42	0,99	0,43	-	-	-
120/62	6,54	3,90	2,64	-	-	-
125/62	12,34	10,03	2,31	-	-	-
131/62	8,38	4,30	4,08	-	-	-
136/62	8,72	5,45	3,27	-	-	-
138/62	2,94	0,33	2,61	-	-	-
142/62	6,58	3,02	3,56	-	-	-
143/62	1,08	0,86	0,22	-	-	-
146/62	0,51	0,08	0,43	-	-	-
147/62	5,24	1,63	3,61	-	-	-
148/62	3,33	0,49	2,84	-	-	-
152/62	3,97	0,65	3,32	-	-	-
153/62	24,74	12,78	11,96	-	-	-
156/62	8,20	3,80	4,40	-	-	-
158/62	0,68	0,30	0,38	-	-	-
159/62	5,63	2,48	3,15	-	-	-
160/62	2,55	1,23	1,32	-	-	-
162/62	3,36	1,15	2,21	-	-	-
163/62	7,83	4,22	3,61	-	-	-
166/62	9,26	4,86	4,40	-	-	-
205/63	7,10	2,29	4,81	20,2	12,1	8,1
222/63	2,21	1,17	1,04	9,8	5,0	4,8
223/63	2,19	0,67	1,52	7,9	4,4	3,5
232/63	2,89	2,30	0,59	13,4	8,7	4,7
234/63	13,12	5,84	7,28	54,1	33,8	20,3
236/63	15,10	5,16	9,94	53,1	32,4	20,7
240/63	2,69	1,21	1,48	9,7	6,1	3,6
242/63	2,64	1,76	0,88	15,9	8,3	7,6
266/63	8,83	4,34	4,49	-	-	-
269/63	1,98	1,09	0,89	8,2	6,8	1,4
272/63	1,72	0,78	0,94	8,1	4,7	3,4
277/63	4,36	2,10	2,26	25,5	12,6	12,9
280/63	8,79	1,52	7,27	-	-	-
155/64	7,15	4,30	2,85	10,4	7,7	2,7
160/64	13,30	7,26	6,04	22,0	18,4	3,6
163/64	10,05	7,06	2,99	24,8	20,5	4,3
165/64	13,10	5,88	7,22	45,5	29,5	16,0
177/64	12,00	4,64	7,36	21,5	19,2	2,4
180/64	6,88	3,05	3,83	13,5	5,8	7,7
181/64	2,33	2,15	0,18	-	-	-
182/64	10,30	6,00	4,30	22,6	22,3	0,3
184/64	10,20	6,55	3,65	19,2	15,4	3,8
191/64	9,75	5,48	4,27	20,0	14,2	5,8
192/64	12,15	6,64	5,51	30,5	20,0	10,5
194/64	9,75	6,03	3,72	22,6	14,9	7,7
199/64	9,96	5,40	4,56	20,6	12,2	8,4
201/64	5,64	4,34	1,30	6,8	4,5	2,3
202/64	11,90	6,24	5,66	24,5	13,9	10,5
203/64	11,32	4,77	6,55	20,8	8,2	12,6
206/64	19,24	7,59	11,65	57,9	32,5	25,4
207/64	5,11	3,67	1,44	3,1	2,9	0,2
209/64	9,22	3,72	5,50	20,7	13,0	7,7
211/64	3,00	1,30	1,70	5,6	3,4	2,2

TABELLE I

Acetacetat und β -Hydroxybutyrat im arteriellen (A) und koronarvenösen (V_c) Blut und die Extraktionen (E) durch den Herzmuskel (55 Untersuchungen). Alle Werte sind in $\mu\text{Mol}/100\text{ ml}$ Blut angegeben. Bei 25 Untersuchungen wurde nur Acetacetat bestimmt (HK-Nr. = Herzkatheter-Nummer).

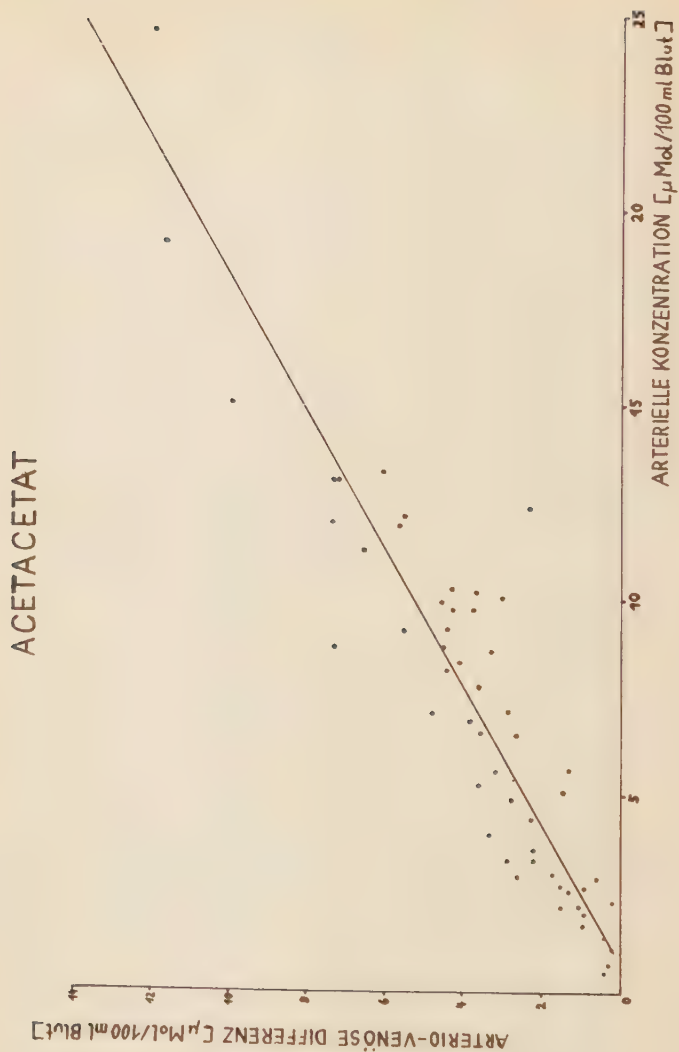


ABBILDUNG 2

Abhängigkeit der myocardialen Acetacetat-Extraktion von der arteriellen Konzentration. 55 Messpunkte. Gleichung der linearen Regression: $y = 0,57 x - 0,48$; $r = 0,92$. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % darf man auf Korrelation schließen.

β -Hydroxybutyrat konnte ebenfalls bei allen untersuchten Patienten im arteriellen Blut nachgewiesen werden. Die einzelnen Werte sind in Tabelle I aufgeführt. Die Konzentrationen liegen zwischen $3,1$ und $57,9 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ Blut bei einem Mittelwert von $21,3 \pm 2,6 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$. Im arteriellen Blut ist also wesentlich mehr β -Hydroxybutyrat als Acetacetat enthalten. Das Verhältnis β -Hydroxybutyrat/Acetacetat beträgt im Durchschnitt im arteriellen Blut $2,87 \pm 0,25$.

Die koronarvenösen Konzentrationen sind auch bei diesem Substrat deutlich erniedrigt. Die Werte liegen zwischen $2,9$ und $33,8 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ Blut bei einem Mittelwert von $13,8 \pm 1,7 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$. Das Verhältnis β -Hydroxybutyrat/Acetacetat beträgt im koronarvenösen Blut $3,69 \pm 0,31$.

Die myocardiale Extraktion steht auch bei β -Hydroxybutyrat in enger Beziehung zum arteriellen Angebot wie aus Abbildung 3 zu ersehen ist. Im Durchschnitt wurden $7,5 \pm 1,2 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ aufgenommen. Die einzelnen Werte liegen zwischen $0,2$ und $25,4 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ Blut. Die prozentuale Extraktion des arteriellen Angebotes ist für dieses Substrat geringer als für Acetacetat und ergibt einen Mittelwert von $35,2 \%$. Hieraus erklärt sich das unterschiedliche Verhältnis β -Hydroxybutyrat/Acetacetat im arteriellen und koronarvenösen Blut.

Siehe Abbildung 3, Seite 20.

Um festzustellen, in welcher Höhe die beiden Substrate am gesamten oxydativen Stoffwechsel des menschlichen Herzmuskels beteiligt sind, wird das Sauerstoffäquivalent errechnet, das als diejenige Sauerstoffmenge definiert ist, die erforderlich ist, um 1 mg eines Substrates vollständig zu CO_2 und H_2O zu oxydieren; 1 mg Acetacetat entspricht $0,88 \text{ ml O}_2$; 1 mg β -Hydroxybutyrat entspricht $0,97 \text{ ml O}_2$. Als durchschnittliche Sauerstoffextraktion wurde bei den hier vorliegenden Untersuchungen ein Wert von $12,87 \pm 0,22 \text{ Vol. \%}$ ermittelt.

Aus diesen Grössen, nämlich den Sauerstoffäquivalenten und den Sauerstoffextraktionswerten, werden die Anteile der einzelnen Substrate am gesamten oxydativen Stoffwechsel des Herzmuskels in Prozent der O_2 -Extraktion (Sauerstoffextraktionsquotient = $\text{O}_2\text{-EQ}$) nach folgender Formel berechnet:

Acetacetat:

$$\text{O}_2\text{-EQ} = \frac{A - Vc \text{ (mg\%)} \times 0,88 \times 100}{A - Vc \text{ O}_2 \text{ (Vol. \%)}}$$

β -Hydroxybutyrat:

$$\text{O}_2\text{-EQ} = \frac{A - Vc \text{ (mg\%)} \times 0,97 \times 100}{A - Vc \text{ O}_2 \text{ (Vol. \%)}}$$

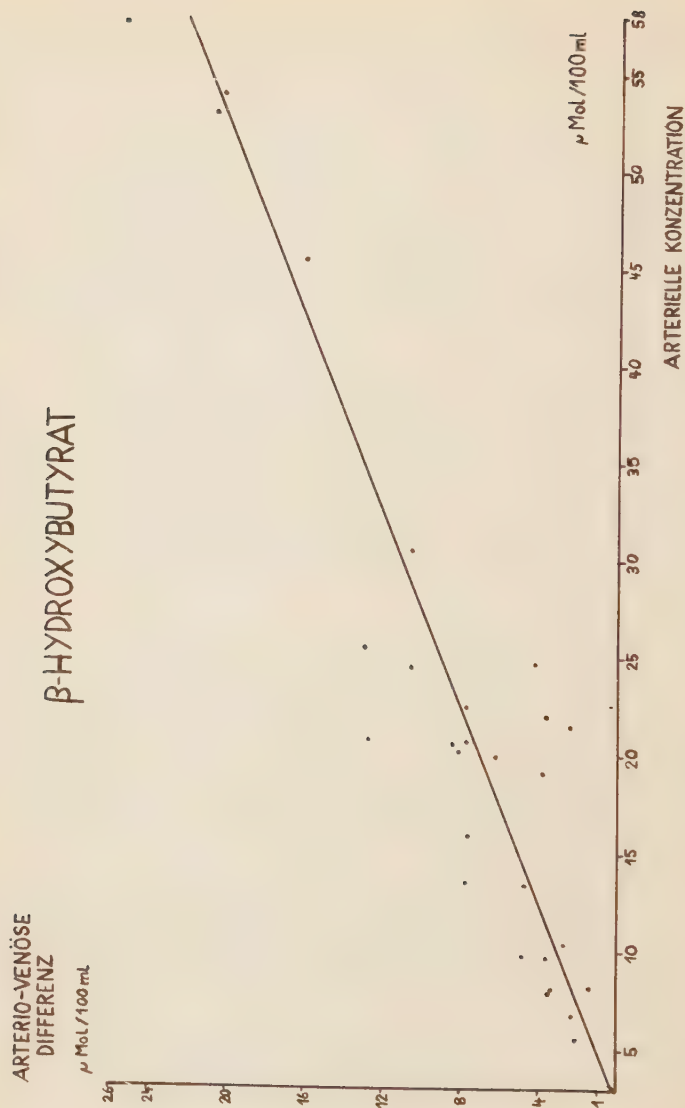


ABBILDUNG 3

Abhängigkeit der myocardialen β -Hydroxybutyrat-Extraktion von der arteriellen Konzentration. 30 Messpunkte. Gleichung der linearen Regression; $y = 0,40 x - 1,00$; $r = 0,90$. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % darf man auf Korrelation schließen.

Substrat	O ₂ -Extraktionsquotient
Nichtveresterte Fettsäuren (54)	69,7 + 3,0 %
Glukose (54)	14,5 + 1,9 %
Milchsäure (55)	12,9 + 1,1 %
Acetacetat (55)	2,6 + 0,3 %
β-Hydroxybutyrat (30)	6,0 + 1,0 %
Brenztraubensäure (55)	1,0 + 0,1 %
Aminosäuren (30)	— %
Gesamt	106,7 ± 3,9 %

TABELLE III

O₂-Extraktionsquotienten der aufgenommenen Substrate. Mittelwerte (Zahl der Untersuchungen).

Tabelle III zeigt, dass die wesentlichen Energielieferanten für den Herzmuskel nichtveresterte Fettsäuren, Glukose und Milchsäure sind. Trotz der hohen prozentualen Extraktion des arteriellen Angebotes von 50 % ist Acetacetat nur mit 2,6 ± 0,3 % am gesamten oxydativen Stoffwechsel des Herzmuskels unter physiologischen Bedingungen beteiligt.

Der Sauerstoffextraktionsquotient von β-Hydroxybutyrat ist mit 6,04 ± 1,0 % wesentlich höher als der von Acetacetat. Dies beruht auf der höheren arteriellen Konzentration und der von ihr abhängigen Extraktion. Für die Ketonkörper ergibt sich folglich ein Sauerstoffextraktionsquotient von 8,6 %. Die übrigen Substrate (nichtveresterte Fettsäuren, Glukose, Milchsäure und Brenztraubensäure) sind bei diesen Untersuchungen mit 98,1 % am gesamten oxydativen Stoffwechsel des Herzens beteiligt, so dass der Gesamtsauerstoffextraktionsquotient 106,7 % beträgt. Für die Aminosäuren konnte keine statistisch gesicherte Extraktion festgestellt werden.

Substrat	O ₂ -Extraktionsquotient
Nichtveresterte Fettsäuren	61,3 %
Glukose	6,8 %
Milchsäure	7,0 %
Brenztraubensäure	0,6 %
β-Hydroxybutyrat	17,5 %
Acetacetat	6,9 %
Gesamt	100,1 %

TABELLE IV

In dieser Tabelle IV sind die Sauerstoffextraktionsquotienten von 4 Patienten mit über durchschnittlich hohen Ketonkörperkonzentrationen aufgeführt. Der O_2 -Extraktionsquotient der Kohlenhydrate (gesamt) ist gegenüber dem Mittelwert (28,4%) auf 14,4% erniedrigt. Hingegen ist der O_2 -Extraktionsquotient der Ketonkörper von durchschnittlich 8,6 % auf 24,4 % erhöht.

Substrat	art. Konz.	Extraktion	O_2 - EQ
N F S	94,8 $\mu\text{Äq}/100$	22,3 $\mu\text{Äq}/100$	84,7 %
Gl	283 mg %	6,0 mg %	30,6 %
MS	6,5 mg %	-1,6 mg %	-
BTS	1,04 mg %	-0,05 mg %	-
HOB	123,25 $\mu\text{Mol}/100$	25,0 $\mu\text{Mol}/100$	17,2 %
AcAc	54,2 $\mu\text{Mol}/100$	15,65 $\mu\text{Mol}/100$	9,6 %
Gesamt			142,1 %

TABELLE V

N F S = nichtveresterte Fettsäuren; Gl = Glukose; MS = Milchsäure; BTS = Brenztraubensäure; HOB = β -Hydroxybutyrat; AcAc = Acetacetat; O_2 - EQ = Sauerstoffextraktionsquotient.

Substratkonzentrationen, myocardiale Extraktionen und die Sauerstoffextraktionsquotienten bei einem 22-jährigen Diabetiker, der nicht mit Insulin vorbehandelt war.

Die prozentuale Extraktion der nichtveresterten Fettsäuren entsprach in etwa dem Normalwert, der Sauerstoffextraktionsquotient war entsprechend der arteriellen Konzentration erhöht. Die Glukoseaufnahme betrug 6,0 mg % und liegt damit an der oberen Grenze der Schwankungsbreite. Für Milchsäure und Brenztraubensäure ergaben sich deutliche negative Extraktionen und der Sauerstoffextraktionsquotient lässt sich folglich nicht berechnen. Die prozentuale Extraktion von β -Hydroxybutyrat und Acetacetat war mit 20,3 bzw. 28,9 % deutlich erniedrigt. Der Sauerstoffextraktionsquotient der Ketonkörper betrug 26,8 %.

Aus den vorliegenden Substratkonzentrationen lassen sich mit Hilfe der Quotienten reduzierte Form/oxydierte Form (Red/Ox) der beiden Substratpaare β -Hydroxybutyrat-Acetacetat und Laktat-Pyruvat die Redoxpotentiale im Blut nach folgender Formel berechnen:

$$E'_h = E'_o - 30,7 \times \log \frac{\text{Red}}{\text{Ox}} \text{ (mV)}$$

Zeichenerklärung:

E'_h = Ist-Potential;

E'_o = Normalpotential eines Redoxsystems (pH = 7,0; 37°C)

E'_o (β -Hydroxybutyrat/Acetacetat) = -274,4 mV (38,30);

E'_o (Laktat/Pyruvat) = -204 mV (27).

HK-Nr	E_h' (mV) arteriell	E_h' (mV) koronarvenös	ΔE (mV)
205/63	-287,7	-296,6	-8,9
222/63	-294,3	-293,8	+0,5
223/63	-291,5	-299,5	-8,0
232/63	-294,9	-292,1	+2,8
234/63	-293,3	-297,8	-4,5
236/63	-291,2	-298,9	-7,7
240/63	-291,5	-296,0	-4,5
242/63	-298,4	-295,1	+3,3
269/63	-293,3	-298,8	-5,5
272/63	-295,0	-298,4	-3,4
277/63	-297,9	-298,3	-0,4
155/64	-279,4	-282,2	-2,8
160/64	-281,0	-286,8	-5,8
163/64	-286,5	-288,6	-2,1
165/64	-291,0	-295,9	-4,9
177/64	-282,2	-293,3	-11,1
180/64	-283,4	-283,0	+0,4
182/64	-284,9	-291,9	-7,0
184/64	-282,8	-285,8	-3,0
191/64	-284,0	-287,1	-3,1
192/64	-286,8	-289,1	-2,3
194/64	-285,6	-286,5	-0,9
199/64	-284,0	-285,3	-1,3
201/64	-277,2	-274,8	+2,4
202/64	-284,0	-285,1	-1,1
203/64	-282,5	-281,6	+0,9
206/64	-289,3	-293,8	-4,5
207/64	-267,6	-271,4	-3,8
209/64	-289,1	-291,1	-2,0
211/64	-282,7	-287,2	-4,5
Mittelwerte	-287,1	-290,2	-3,1

TABELLE VI

Redoxpotentiale von β -Hydroxybutyrat/Acetacetat im arteriellen und koronarvenösen Blut und die entsprechenden Änderungen durch den Herzmuskel (30 Untersuchungen).

HK-Nr	E'_h arteriell (mV)	E'_h koronarvenös (mV)	ΔE (mV)
205/63	-236,9	-237,4	-0,5
222/63	-245,4	-244,6	+0,8
223/63	-230,0	-234,0	-4,0
232/63	-239,9	-236,7	+3,2
234/63	-236,7	-236,8	-0,1
236/63	-240,4	-234,2	+6,2
240/64	-235,6	-235,1	+0,5
242/63	-234,4	-231,7	+2,7
269/63	-239,3	-239,8	-0,5
272/63	-238,2	-241,7	-3,5
277/63	-239,3	-239,5	-0,2
160/64	-237,4	-237,3	+0,1
163/64	-238,3	-239,8	-1,5
165/64	-227,2	-226,9	+0,3
177/64	-231,9	-235,3	-3,4
180/64	-230,7	-218,0	+12,7
182/64	-238,6	-235,6	+3,0
184/64	-240,5	-241,6	-1,1
191/64	-232,9	-234,7	-1,8
192/64	-236,6	-236,8	-0,2
194/64	-242,8	-239,8	+3,0
199/64	-239,6	-238,9	+0,7
201/64	-243,1	-239,8	+3,3
203/64	-240,0	-235,1	-4,9
206/64	-234,2	-234,7	-0,5
207/64	-239,4	-238,0	+1,4
209/64	-240,5	-239,2	+1,3
211/64	-238,0	-240,0	-2,0
Mittelwerte	-237,4	-236,5	+0,9

TABELLE VII

Redoxpotentiale von Laktat/Pyruvat im arteriellen und koronarvenösen Blut und die entsprechenden Änderungen durch den Herzmuskel (28 Untersuchungen).

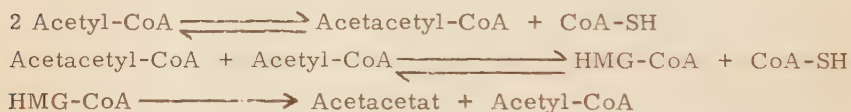
Wie aus Tabelle VI zu ersehen ist, beträgt das Redoxpotential von β -Hydroxybutyrat/Acetacetat im arteriellen Blut durchschnittlich -287,1 mV und -290,2 mV im koronarvenösen Blut. Als Mittelwert der Potentialänderungen (ΔE) ergibt sich ein ΔE von -3,1 mV. Das Redoxpotential wird also während des Blutflusses durch das Herzmuskelgewebe negativer, d.h. der Quotient β -Hydroxybutyrat/Acetacetat wird grösser.

Für das Substratpaar Laktat/Pyruvat beträgt das Redoxpotential arteriell durchschnittlich -237,4 mV und -236,5 mV im koronarvenösen Blut bei einem mittleren ΔE von +0,9 mV (Tab. VII). Es erfolgt somit eine geringe Positivierung dieses Potentials.

IV. DISKUSSION

Die unter physiologischen Stoffwechselbedingungen in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass im menschlichen Blut stets Ketonkörper (Acetacetat und β -Hydroxybutyrat) vorhanden sind. Aceton, das ebenfalls zu den Ketonkörpern gezählt wird und durch nicht-enzymatische Dekarboxylierung aus dem unbeständigen Acetacetat entsteht, ist unter normalen Bedingungen höchstens in Spuren im Blut vorhanden und kann deshalb vernachlässigt werden.

Acetacetat und β -Hydroxybutyrat werden fortlaufend in der Leber gebildet (43, 51). Ihre Biosynthese erfolgt über den β -Hydroxy- β -methylglutaryl-Coenzym-A-Zyklus (HMG-CoA-Zyklus) (43, 13). Aus Acetyl-CoA und Acetacetyl-CoA, das aus 2 Molekülen Acetyl-CoA unter Abspaltung von Coenzym A entsteht, bildet sich unter der katalytischen Wirkung des HMG-CoA-kondensierenden Enzyms HMG-CoA (43, 13). Mit Hilfe des HMG-CoA-spaltenden Enzyms wird dann Acetacetat freigesetzt (1, 43);



Acetacetat wird in der Leber normalerweise nicht abgebaut (44, 52). Es erfolgt lediglich vor Abgabe an das Blut eine teilweise Reduktion zu β -Hydroxybutyrat (40).

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Arbeiten (57) sind die hier gemessenen Blutkonzentrationen beider Substrate bei den einzelnen Patienten sehr unterschiedlich, so dass sich erhebliche Abweichungen von den Mittelwerten ergeben. Die Konzentrationen sind also unter physiologischen Bedingungen nicht konstant. Allerdings soll das Verhältnis HOB/AcAc bei den einzelnen Patienten, an verschiedenen Tagen bestimmt, ziemlich gleichmässig sein, wie Williamson, Mellanby und Krebs berichten (57). Sie fanden im arteriellen Blut Acetacetatkonzentrationen zwischen 1,5 und 22,6 $\mu\text{Mol}/100 \text{ ml}$ bei einem Mittelwert von 8,88 $\mu\text{Mol}/100 \text{ ml}$ Blut. Bei ihnen hatten die Patienten ebenfalls mindestens 12 Stunden vor der Blutentnahme keine Nahrung mehr zu sich genommen. Vergleicht man ihre Ergebnisse mit denen der vorliegenden Arbeit, so zeigt sich sowohl bei dem Mittelwert ($7,2 \pm 0,66 \mu\text{Mol}/100 \text{ ml}$) als auch in der Schwankungsbreite (0,51 - 24,74 $\mu\text{Mol}/100 \text{ ml}$) eine gute Übereinstimmung.

Entsprechend den Ergebnissen von Williamson und Mitarbeitern (57) fanden sich bei den vorliegenden Untersuchungen wesentlich höhere arterielle Konzentrationen von β -Hydroxybutyrat als von Acetacetat. Sie gaben β -Hydroxybutyrat-Spiegel zwischen 3,1 und 65,0 $\mu\text{Mol pro}$

100 ml Blut bei einem Mittelwert von $25,15 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ an. Diese Werte zeigen somit kaum eine Abweichung von den eigenen Ergebnissen, die bei einem Mittelwert von $21,3 \pm 2,6 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ zwischen $3,1$ und $57,9 \mu \text{ Mol}$ pro 100 ml Blut schwanken.

Das Verhältnis β -Hydroxybutyrat/Acetacetat beträgt im arteriellen Blut durchschnittlich $2,9$ bei einer allerdings relativ grossen Schwankungsbreite. Bei Williamson und Mitarbeitern (57) ergab sich für diesen Quotienten ein Mittelwert von $2,73 \pm 0,73$. Auch hier besteht also eine gute Übereinstimmung. Bei den Untersuchungen von Friedemann (21) war der Quotient mit $2,01$ etwas niedriger.

Fasst man β -Hydroxybutyrat und Acetacetat zusammen, so ergibt sich in dieser Arbeit eine Ketonkörperkonzentration von $28,5 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ arterielles Blut, die mit den Krebs'schen Angaben vergleichbar ist (57). Der Mittelwert liegt bei diesen Autoren (57) um etwa $5,5 \mu \text{ Mol}$ höher und beträgt $34,0 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$. Bing (8) bestimmte die Blutkonzentrationen der Gesamtketonkörper und erhielt Werte zwischen $0,3$ und $3,79 \text{ mg} \%$ im arteriellen Blut. Sein Durchschnittswert betrug $1,44 \text{ mg}\%$. Die hier gefundenen $28,5 \mu \text{ Mol}/100 \text{ ml}$ entsprechen $2,98 \text{ mg}\%$, sind also etwa doppelt so hoch. Dieser grosse Unterschied zu den Bing'schen Ergebnissen kann dadurch bedingt sein, dass die Patienten, bei denen er die Untersuchungen durchführte, nicht so lange nüchtern waren wie bei den vorliegenden Bestimmungen.

Vergleichswerte für die hier ermittelten koronarvenösen Konzentrationen von Acetacetat ($3,6 \pm 0,36 \mu \text{ Mol}/100$) und β -Hydroxybutyrat ($13,8 \pm 1,7 \mu \text{ Mol}/100$) liegen unseres Wissens bisher im Schrifttum nicht vor. Es kann daher lediglich auf die Untersuchungen von Bing (8) über die Gesamtketonkörperkonzentrationen im koronarvenösen Blut Bezug genommen werden. Bing fand Werte zwischen $0,23$ und $3,1 \text{ mg}\%$ bei einem Mittelwert von $1,02 \text{ mg}\%$. Die hier gefundene mittlere koronarvenöse Konzentration der Ketonkörper ist um $0,78 \text{ mg}\%$ höher und beträgt $1,8 \text{ mg}\%$ ($\approx 17,4 \mu \text{ Mol}/100$), was den veränderten Ausgangsbedingungen entsprechen dürfte.

Bei Bing (8) ergibt sich eine durchschnittliche Extraktion durch den Herzmuskel von $0,422 \text{ mg}\%$, die prozentuale Extraktion beträgt also $29,3 \%$ des arteriellen Angebotes. Die hier gefundene mittlere Extraktion der Ketonkörper ist mit $1,18 \text{ mg}\%$ über doppelt so hoch wie bei Bing (8) und lässt sich nicht allein durch die höheren arteriellen Konzentrationen erklären, da auch die prozentuale Extraktion von $38,9 \%$ um $9,6 \%$ höher liegt als bei Bing (8).

Die prozentuale Extraktion von Acetacetat und β -Hydroxybutyrat ist sehr unterschiedlich. Nach den eigenen Ergebnissen werden durchschnittlich 50% des Acetacetats und nur $35,2 \%$ des β -Hydroxybutyrats vom Herzmuskel aufgenommen. Dies deutet eine bevorzugte Extraktion von Acetacetat an, wie schon Blixenkrone-Møller (9) feststellen konnte. Es ist dabei jedoch zu bedenken, dass bei der Keton-

körperaufnahme 67,6 % auf β -Hydroxybutyrat und nur 32,4 % auf Acetacetat entfallen, da die arterielle Konzentration von β -Hydroxybutyrat etwa dreimal so gross ist.

Die hohe prozentuale Extraktionsquote der Ketonkörper wird von keinem der übrigen, am Myocardstoffwechsel beteiligten Substrate erreicht (6, 7). Trotzdem gehören die Ketonkörper wegen ihrer unter normalen Bedingungen nur sehr geringen Blutkonzentrationen nicht zu den wesentlichen Energielieferanten des Herzmuskels. Die beiden Substrate sind bei den vorliegenden Untersuchungen mit 8,6 % am gesamten oxydativen Stoffwechsel des menschlichen Herzens beteiligt, dabei entfallen auf Acetacetat $2,59 \pm 0,27$ % und auf β -Hydroxybutyrat $6,04 \pm 1,0$ %. Bei Bing (8) liegen die Sauerstoffextraktionsquotienten der Gesamtketonkörper zwischen 0,55 und 10,4 % bei einem Mittelwert von 4,3 %. Diese unterschiedlichen Ergebnisse sind zum Teil darauf zurückzuführen, dass die Konzentrationen in dieser Arbeit etwa doppelt so hoch waren wie bei Bing (8).

Die laufende Ketonkörperaufnahme durch den Herzmuskel erfolgt nach Green und Mitarbeitern (25) durch die Übertragung von Coenzym A aus Succinyl-CoA auf das freie Acetacetat (25, 44):

Succinyl-CoA + Acetacetat $\longrightarrow$ Acetacetyl-CoA + Succinat

Acetacetyl-CoA wird dann durch Aufnahme von Coenzym A in 2 Moleküle Acetyl-CoA gespalten, die über den Tricarbonsäure-Zyklus abgebaut werden können (33; 34; 35; 36; 37; 44; 45). Die für die einzelnen Reaktionen erforderlichen Enzyme konnten in Herzmuskelhomogenisaten nachgewiesen werden (24; 44).

Dass die aufgenommenen Ketonkörper im Herzmuskel vollständig abgebaut werden und somit als Energielieferanten zur Verfügung stehen, konnten Williamson und Krebs (56) am durchströmten Rattenherzen nachweisen. Sowohl im Durchströmungsmedium als auch im Gewebe häuften sich keine Stoffwechselzwischenprodukte dieser beiden Substrate an. Bei Erhöhung der Ketonkörperkonzentrationen auf unphysiologische Werte wurde etwa die Hälfte des aufgenommenen Acetacetats im Gewebe zu β -Hydroxybutyrat reduziert und wieder an das Durchströmungsmedium abgegeben. Die Ketonkörperaufnahme durch den Herzmuskel ist demnach begrenzt (20). Andere Untersuchungen, die zu ähnlichen Ergebnissen führten, wurden von Bassenge (3) und Mitarbeitern durchgeführt. Bei den Versuchen von Williamson und Krebs (56) zeigte sich ferner, dass bei Abfall der Acetacetat- und β -Hydroxybutyratkonzentrationen auch weniger extrahiert wurde. Dies stimmt mit den vorliegenden Ergebnissen überein. Bei beiden Substraten waren die Extraktionen von den arteriellen Konzentrationen abhängig. Je höher diese lagen, desto mehr wurde vom Herzmuskel aufgenommen.

Interessant ist nun die Frage, wie sich die Extraktionen und Sauerstoffextraktionsquotienten der übrigen Substrate unter dem Einfluss hoher Ketonkörperkonzentrationen verhalten. Hierzu liegen die Ergebnisse von 4 Patienten vor (Tab. IV). Bei ihnen waren die Sauerstoffextraktionsquotienten der Ketonkörper mit Werten von 18,1 bis 33,7 % infolge der arteriellen Konzentrationen wesentlich grösser als der Mittelwert (8,6 %) und betrugen im Durchschnitt 24,4 %. Die Kohlenhydrate Glukose, Milchsäure und Brenztraubensäure zeigten bei etwa normalen arteriellen Konzentrationen eine erhebliche Abnahme des Sauerstoffextraktionsquotienten von 28,4 auf 14,4 %. Bei den nichtveresterten Fettsäuren lagen die arteriellen Konzentrationen um $10,2 \mu\text{Äq}/100 \text{ ml}$ Blut niedriger als der Mittelwert ($63,3 \mu\text{Äq}/100 \text{ ml}$) bei einer normalen prozentualen Extraktion durch den Herzmuskel. Der Sauerstoffextraktionsquotient war um 8,4 % niedriger als der Mittelwert (69,7 %). Es kann also angenommen werden, dass die Aufnahme und Verwertung von Kohlenhydraten durch den Herzmuskel bei erhöhten Ketonkörperkonzentrationen im Sinne einer Hemmung beeinflusst werden, und der Anstieg des Sauerstoffextraktionsquotienten der Ketonkörper von 8,6 auf 24,4 % von einem gleichgrossen Abfall des Sauerstoffextraktionsquotienten der Kohlenhydrate von 28,4 auf 14,4 % begleitet wird. Die Aufnahme der nichtveresterten Fettsäuren wird hingegen nicht beeinflusst. Williamson und Krebs (56) fanden bei ihren Untersuchungen über die wechselseitigen Wirkungen von Kohlenhydraten und Ketonkörpern auf den Stoffwechsel des durchströmten Rattenherzens ebenfalls einen ähnlichen Effekt. Setzten sie dem Durchströmungsmedium, das Acetacetat enthielt, Insulin oder Insulin + Glukose zu, so fiel der Sauerstoffextraktionsquotient von Acetacetat von 82 - 73 % auf 64 - 51 % ab. Andererseits wurde der Glukoseanteil durch zugesetztes Acetacetat von 24 auf 4 % erniedrigt. Insulin steigerte den Anteil von Glukose von 24 auf 57 %, in Anwesenheit von Acetacetat von 4 auf 15 %. Die Oxydation von Glukose wurde also in An- und Abwesenheit von Insulin durch Acetacetat vermindert. Acetacetat war bei den Versuchen jeweils bevorzugt oxydiertes Substrat, wie auch andere Ergebnisse zeigen (29).

Es erhebt sich nun die Frage, ob die Ketonkörperaufnahme des Herzens auch beim Menschen begrenzt ist, und in welcher Weise der Myocardstoffwechsel der übrigen Substrate durch unphysiologische Ketonkörperkonzentrationen beeinflusst wird. Naturgemäss konnte dies bei den hier durchgeführten Untersuchungen nicht geklärt werden. Eine Beobachtung kann jedoch in dieser Richtung interpretiert werden. Bei einem 22-jährigen Diabetiker, der nicht mit Insulin vorbehandelt war, fanden sich im arteriellen Blut Ketonkörperkonzentrationen von $54,2 \mu \text{ Mol Acetacetat}/100 \text{ ml}$ und $123,25 \mu \text{ Mol } \beta\text{-Hydroxybutyrat}/100 \text{ ml}$. Bei diesen Konzentrationen, die etwa doppelt so hoch lägen wie die höchsten Werte unter physiologischen Bedingungen, nahm der Herz-

muskel $15,65 \mu\text{ Mol}$ Acetacetat und $25,0 \mu\text{ Mol}$ β -Hydroxybutyrat pro 100 ml Blut auf. Die prozentuale Extraktion ist folglich bei diesen unphysiologisch hohen Ketonkörperkonzentrationen mit 28,8 bzw. 20,3 % wesentlich vermindert. Die Sauerstoffextraktionsquotienten betrugen für Acetacetat 9,6 % und für β -Hydroxybutyrat 17,2 % und lagen damit nicht höher als bei den grössten physiologischen Konzentrationen. Dieses Ergebnis kann dadurch bedingt sein, dass es beim Diabetes mellitus zu einer Störung der Utilisation der Ketonkörper in der Peripherie des Organismus kommt (4), oder dass die Ketonkörperaufnahme und ihre Beteiligung am oxydativen Stoffwechsel des Herzens eine bestimmte Grenze nicht überschreiten kann. Bei diesen Bedingungen zeigten nun die übrigen Substrate ein sehr unterschiedliches Verhalten. Es ergab sich eine Glukoseextraktion von 6 mg%, wobei der Sauerstoffextraktionsquotient 30,6 % erreichte, was noch im Bereich der Schwankungsbreite liegt. Für Milchsäure und Brenztraubensäure ergaben sich dagegen negative Extraktionen. Dies entspricht in etwa einer eigenen Beobachtung und den Ergebnissen von Ungar und Mitarbeitern (53), dass eine erhebliche Abnahme der Extraktion dieser beiden Substrate bei einer diabetischen Stoffwechsellage erfolgt. Diese negative Extraktion von Laktat und Pyruvat könnte vielleicht dadurch bedingt sein, dass es auf Grund der diabetischen Acidose zu einer Hemmung der Einschleusung von Pyruvat in den Tricarbonsäure-Zyklus kommt, wobei an eine Störung der DPN-abhängigen Dekarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA zu denken ist.

Neben der Funktion als Energielieferanten für den Stoffwechsel des Herzmuskels dürfte nach Bücher und Klingenberg (12) und anderen Autoren (32,47) dem Substratpaar β -Hydroxybutyrat/Acetacetat insofern eine weitere Bedeutung zukommen, als es einen Einblick in den Redoxzustand des intramitochondrialen DPN-Systems zu erlauben scheint, und zwar in ähnlicher Weise wie man das für das Substratpaar Laktat/Pyruvat für den extramitochondrialen bzw. cytoplasmatischen Raum (C-Raum) annimmt (12; 32; 27; 46).

Diese Überlegungen sind deshalb angestellt worden

1. weil β -Hydroxybutyrat und Acetacetat leicht durch Zellmembranen diffundieren, so dass sich zwischen Blut und Gewebe schnell ein Gleichgewicht der Konzentrationen einstellen kann,
2. weil β -Hydroxybutyrat nur in Umkehrung seines Bildungsweges weiterreagieren kann und dadurch die Oxydo-Reduktion nicht von mehreren Fermentsystemen beeinflusst wird,
3. weil das Redoxpotential dieses Substratpaares relativ negativ ist und somit dem Redoxpotential des DPN-Systems im mitochondrialen Raum (M-Raum) sehr nahe kommt, und
4. weil die mit dem DPN-System verbundene D(-)- β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase fest in der Mitochondrienstruktur verankert ist (41) und somit eine Änderung des Redoxpotentials von β -Hydroxybutyrat/Acetacetat nur im M-Raum erfolgen kann.

Das Redoxpotential dieses Substratpaares müsste demnach den Funktionszustand des intramitochondrialen DPN-Systems widerspiegeln, und auf dem Blutweg eine Koordination der DPN-Systeme der einzelnen Organe herbeiführen (32).

Auf Grund unserer Berechnungen lässt sich feststellen, dass sich im koronarvenösen Blut eine Negativierung des Redoxpotentials von β -Hydroxybutyrat/Acetacetat um durchschnittlich 3,1 mV (arteriell: -287,1 mV; koronarvenös: -290,2 mV) gegenüber dem arteriellen Blut ergibt. Die Redoxpotentiale im arteriellen Blut entsprechen in etwa den Werten, die sich aus dem mittleren Quotienten für β -Hydroxybutyrat/Acetacetat, der von Williamson und Mitarbeitern (57) angegeben wurde, ermitteln lassen. Das Redoxpotential von Laktat/Pyruvat wurde hingegen während des Blutflusses durch den Herzmuskel um durchschnittlich 0,9 mV positiver. In Bezug auf das Redoxpotential von Laktat/Pyruvat entspricht dieses Ergebnis den Beobachtungen von Gudbjarnason und Bing (27), die im Tierversuch feststellen konnten, dass das Redoxpotential von Laktat/Pyruvat unter normalen Bedingungen im koronarvenösen Blut positiver als im arteriellen ist. Bei ihren Untersuchungen wurde dagegen dieses Potential unter Anoxie-Bedingungen im koronarvenösen Blut wesentlich negativer ($\Delta E = -9,4$ mV). Sie kamen deshalb zu dem Schluss, dass eine Negativierung des Redoxpotentials von Laktat/Pyruvat bei einem Sauerstoffmangel im Herzmuskelgewebe auftritt.

Dies trifft nach Klingenbergs (persönl. Mitteilung) für das Redoxpotential von β -Hydroxybutyrat/Acetacetat nicht zu, da ein hohes ATP/ADP Potential eine Negativierung des DPN-Systems in den Mitochondrien und eine Positivierung des DPN-Systems im C-Raum hervorruft. Hier-nach sollte also das Laktat/Pyruvat System dem β -Hydroxybutyrat/Acetacetat System entgegenlaufen, wie das bei den vorliegenden Ergebnissen auch der Fall ist.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die arteriellen und koronarvenösen Konzentrationen von Acetacetat, β -Hydroxybutyrat, Glukose, Laktat, Pyruvat, nichtveresterten Fettsäuren, Aminosäuren und des Sauerstoffs bestimmt, um einen Einblick in die Substratversorgung des menschlichen Herzens zu gewinnen.

Während über den Myokardstoffwechsel der Kohlenhydrate und der nichtveresterten Fettsäuren schon zahlreiche Ergebnisse vorliegen, wurde der Acetacetat- und β -Hydroxybutyratstoffwechsel des Herzens unter physiologischen Bedingungen unseres Wissens bisher nicht näher untersucht.

Bei mittleren arteriellen Konzentrationen von $7,2 \pm 0,66 \mu$ Mol Acetacetat und $21,3 \pm 2,6 \mu$ Mol β -Hydroxybutyrat pro 100 ml Blut unter physiologischen Bedingungen konnte eine statistisch gesicherte Abhängigkeit zwischen arterieller Konzentration und myokardialer Extraktion für beide Substrate festgestellt werden. Dabei wurden 50 % des Acetacetats und 35,2 % des β -Hydroxybutyrats aufgenommen. Für die Ketonkörper (Acetacetat + β -Hydroxybutyrat) ergab sich eine mittlere Extraktion von 38,9 %. Das Verhältnis β -Hydroxybutyrat/Acetacetat betrug im arteriellen Blut 2,9 und 3,7 im koronarvenösen Blut.

Die Sauerstoffextraktionsquotienten betrugen für Acetacetat $2,6 \pm 0,3\%$ und für β -Hydroxybutyrat $6,04 \pm 1,0 \%$, so dass die Ketonkörper mit insgesamt 8,6 % am gesamten oxydativen Stoffwechsel des menschlichen Herzens beteiligt waren.

Bei hohen, noch im physiologischen Bereich liegenden Ketonkörperkonzentrationen mit entsprechend hohen Sauerstoffextraktionsquotienten von durchschnittlich 24,4 % zeigte sich für die Kohlenhydrate eine erhebliche Abnahme der myokardialen Extraktion und eine ebenfalls wesentliche Verminderung ihres Sauerstoffextraktionsquotienten von 28,4 auf 14,4 %, was eine bevorzugte Oxydation der Ketonkörper andeutet. Die Aufnahme der nichtveresterten Fettsäuren war dabei nicht verändert.

Bei einem Diabetiker mit arteriellen Ketonkörperkonzentrationen von $54,2 \mu$ Mol Acetacetat und $123,25 \mu$ Mol β -Hydroxybutyrat pro 100 ml Blut lagen die prozentualen Extraktionen beider Substrate mit 28,8 bzw. 20,3 % deutlich unter den Mittelwerten. Dies kann durch eine Utilisationsstörung der Ketonkörper beim Diabetes mellitus oder durch eine Begrenzung der Aufnahmefähigkeit des Herzmuskels für Ketonkörper bedingt sein. Für Laktat und Pyruvat ergaben sich bei diesem Patienten negative Extraktionen, was durch eine Störung des Pyruvatabbaues im Tricarbonsäure-Zyklus bedingt sein könnte. Die Extraktion der Glukose und der nichtveresterten Fettsäuren zeigte dabei keine wesentliche Änderung.

Die Redoxpotentiale der Substratpaare β -Hydroxybutyrat/Acetacetat und Laktat/Pyruvat im Blut, mit deren Hilfe man einen gewissen Einblick in den Funktionszustand der DPN-Systeme der Mitochondrien und des Cytoplasmas gewinnen kann, zeigen während des Blutflusses durch den Herzmuskel ein entgegengesetztes Verhalten; Während das Redoxsystem β -Hydroxybutyrat/ Acetacetat eine Negativierung um 3,1 mV erfährt, ergibt sich für das Redoxsystem Laktat/Pyruvat eine angedeutete Positivierung um 0,9 mV. Dies entspricht den Angaben von Klingenberg (persönl. Mitteilung), dass ein hohes ATP/ADP Potential eine Positivierung der DPN-Systeme im C-Raum und eine Negativierung der DPN-Systeme in den Mitochondrien hervorruft.

VI. LITERATUR

1. Bachhawat, B.K., Robinson, W.G., Coon, M.I.:
The Enzymatic Cleavage of β -Hydroxy- β -methyl-glutaryl
Coenzyme A to Acetoacetat and Acetyl-Coenzyme A.
J. Biol. Chem., 216, 727 (1955)
2. Barnes, R.H., Mac Kay, E.M., Moc, G.K., Visscher, M.B.:
Utilisation of β -Hydroxybutyric Acid by Isolated Mamma-
lian Heart and Lungs.
Am. J. Physiology, 122, 272 (1938)
3. E. Bassenge, V.E. Wendt, P. Schollmeyer, G. Blümchen,
S. Gudbjarnason and R.J. Bing:
The Effect of Ketone Bodies on Cardiac Metabolism.
From the Department of Medicine, Wayne State Univer-
sity School of Medicine and Harper Hospital, Detroit,
Michigan.
4. Beatty, C.H., A. Marco, R.D. Peterson, R.M. Bocek, and
E.S. West:
Acetoacetic Acid Metabolism by Skeletal Muscle Fibers
from Control and Diabetic Rats.
J. Biol. Chem., 235, 2774 (1960)
5. Bernsmeier, A., H. Blömer und W. Rudolph:
Die Messung der Coronardurchblutung beim Menschen
mit der Stickoxydulmethode.
Verh. dtsh. Ges. Kreisl.-Forsch., 25, 304 (1959)
6. Bernsmeier, A. und W. Rudolph:
Myokardstoffwechsel
Verh. Dtsch. Ges. Kreisl.-Forsch., 27, 59 (1961)
7. Bing, R.J.:
The Metabolism of the Heart.
Harvey Lecture, Series L, 27, (1954-1955)
8. R.J. Bing, M.D., A. Siegel, M.S., I. Ungar, M.D., and
M. Gilbert, M.D.:
Metabolism of the Human Heart
II. Studies on Fat, Ketone and Amino Acid Metabolism
Am. J. of Medicine, 16, 504 (1954)
9. Blixenkrone-Møller, N.:
Über den Abbau von Ketonkörpern.
Z. physiol. Chem., 253, 261 (1938)
10. Bing, R.J., Siegel, A., Vitale, A.G., Balboni, F.A., Sparks, E.,
Klapper, M. and Edwards, S.:
Metabolism of the Human Heart in vivo. I. Carbohydrate
Metabolism.
Am. J. Med., 15, 284 (1953)

11. Bücher, Th., R. Czok und W. Lamprecht:
Pyruvat.
Methoden der enzymatischen Analyse, S.253.
Weinheim 1962
12. Bücher, Th. und M. Klingenberg:
Wege des Wasserstoffs in der lebendigen Organisation.
Angew.Chem., 70, 552 (1958)
13. Caldwell, I.C., Drummond, G.J.:
Enzymes of Acetoacetate Formation.
Biochem. and Biophys. Research Comm., 4, No.2
(1961)
14. Chapelle, E.W., and J.M. Luck:
The Decarboxylation of Amino Acids, Proteins and
Peptides by N-bromsuccinimide.
J.Biol. Chem., 229, 171 (1957)
15. Dole, V.P., and H. Meinertz:
Microdetermination of Longchain Fatty Acids in Plasma
and Tissues.
J.Biol.Chem., 235, 2595 (1960)
16. Edson, N.L.:
Ketogenesis-Antiketogenesis
II. The Influence of Ammonium Chloride on Ketone-
Body Formation in Liver.
Biochem.J., 29, 2082 (1935)
17. Embden, G., Engel, H.:
Über Acetessigsäurebildung in der Leber.
Hofmeister's Beiträge zur chem.Physiol.u. Path.,
11, 323 (1908)
18. Embden, G., Marx, D.:
Über Acetonbildung in der Leber.
Hofmeister's Beiträge zur chem. Physiol.u.Path.,
11, 318 (1908)
19. Embden, G., Michaud, L.:
Über den Abbau der Acetessigsäure im Tierkörper,
Hofmeister's Beitr. zur chem.Physiol.u.Path., 11,
332 (1908)
20. Felts, P.W., Crofford, O.B. and Park, C.R.:
Effect of Infused Ketone Bodies on Glucose Utilisation
in the Perfused Dog.
J.Clin.Invest., 43, 638 (1964)

21. Friedemann, T.E.:
The Ratio of β -Hydroxybutyric Acid to Acetoacetic Acid
in the Blood and Urin
J.Biol.Chem., 142, 635 (1942)
22. Gerhard, C.:
Wiener Med.Presse, 6, 672 (1865)
23. Goodale, W.T., M. Lubin, J.E. Eckenhoff, J.H. Hafkenschiel,
and W.G. Banfield:
Coronary Sinus Catheterization for Studying Coronary
Blood Flow and Myocardial Metabolism.
Am.J.Physiology, 152, 340 (1948)
24. Green, D.E.:
Integrated Enzyme Activity in Soluble Extracts of Heart
Muscle.
Science, 115, 661 (1952)
25. Green, D.E., Goldman, D.S., Mii. S. and Beinert, H.:
The Acetoacetate Activation and Cleavage Enzyme
System
J.Biol.Chem., 202, 137 (1953)
26. Greenberg, L.A. and Lester, D.:
Micromethod for Determination of Acetone and Ketone
Bodies.
J.Biol.Chem., 154, 177 (1944)
27. S.Gudbjarnason and R.J. Bing:
The Redoxpotential of the Lactate-Pyruvate System in
Blood as an Indicator of the Functional State of Cellular
Oxidation.
Biochim. et biophys.Acta, 60, 158 (1962)
28. Gudbjarnason, S., Ph.D., R.O. Hayden, M.D., V.E. Wendt,
M.D., T.B. Stock, M.D., and R.J. Bing, M.D.:
Oxidation Reduction in Heart Muscle
Theoretical and Clinical Considerations
Circulation, 26, 937 (1962)
29. Hall, L.M.:
Preferential Oxidation of Acetoacetate by the Perfused
Heart
Biochem.biophys. Res. Comm., 6, 177 (1961)
30. Hoff-Jørgensen, E.:
Redoxpotentialmessungen im System: β -Oxybuttersäure
Dehydrogenase-Acetessigsäure.
Skand.Arch. Physiol., 80, 176 (1938)

31. Hohorst, H.J.:
L-(+)-Laktat. Bestimmung mit Laktat-Dehydrogenase und DPN.
Methoden der enzymatischen Analyse, S. 266. Weinheim 1962
32. Klingenberg, M., und H.v.Häfen:
Wege des Wasserstoffs in Mitochondrien.
I. Die Wasserstoffübertragung von Succinat zu Acetoacetat.
Biochem.Z., 337, 120 (1963)
33. Korff von, R.W.:
 β -Hydroxybutyrate and Acetoacetate Oxidation by Heart Muscle Mitochondria.
Federation Proceedings, 15, 376 (1956)
34. Krebs, H.A.:
The Physiological Role of the Ketone Bodies
Biochem.J., 80, 225 (1961)
35. Krebs, H.A., Eggleston, L.V.:
Metabolism of Acetoacetic Acid in Animal Tissues.
Nature, 154, 209 (1944)
36. Krebs, H.A., Eggleston, L.V.:
Metabolism of Acetoacetate in Animal Tissues.
Biochem.J., 42, 294 (1948)
37. Krebs, H.A., Johnson, W.A.:
Metabolism of Ketonic Acids in Animal Tissues.
Biochem.J., 31, 645 (1937)
38. Krebs, H.A., J. Mellanby and D.H. Williamson:
The Equilibrium Constant of the β -Hydroxybutyric-Dehydrogenase System.
Biochem.J., 82, 96 (1962)
39. Kulka, R.G., Krebs, H.A., Eggleston, L.V.:
The Reduction of Acetoacetate to β -Hydroxybutyrate in Animal Tissues.
Biochem.J., 78, 95 (1961)
40. Lehninger, A.L., Greville, G.D.:
The Enzymic Oxidation of d- and l- β -Hydroxybutyrate
Biochem. et biophys. acta, 12, 188 (1953)
41. Lehninger, A.L., Sudduth, H.C., Wise, J.B.:
D- β -Hydroxybutyric Dehydrogenase of Mitochondria
J. Biol. Chem., 235, 2450 (1960)

42. Ljunggren, G. :
Darstellung von Acetessigsäurelösungen,
Biochem.Z., 145, 422 (1924)
43. Lynen, F., Henning, U., Bublitx, C., Sörbo, B., Kröplin-Rueff, L.:
Der Mechanismus der Acetessigsäurebildung in der Leber.
Biochem.Z., 330, 269 (1958)
44. McCann, W.P.:
The Oxidation of Ketone Bodies by Mitochondria from Liver and Peripheral Tissues
J.Biol.Chem., 226, 15 (1957)
45. Medes, G., Floyd, N.F., Weinhouse, S.:
Fatty Acid Metabolism
IV. Ketone Bodies as Intermediates of Acetate Oxidation in Animal Tissues
J.Biol.Chem., 162, 1 (1946)
46. H. Schimassek:
Der Einfluss der Leber auf den extracellulären Redox-Quotienten Lactat/Pyruvat.
Biochem.Z., 336, 468 (1963)
47. P.Schollmeyer, E.Bassenge, V.E. Wendt and R.J. Bing:
The Special Role of Hydroxybutyrate and Acetoacetate in Cardiac Metabolism
IV.Europ. Kongress Kardiol., Prag 1964
48. Slein, M.W.:
D-Glukose, Bestimmung mit Hexokinase und Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase
Methoden der enzymatischen Analyse, S. 117,
Weinheim 1962
49. Slyke, D.D. van, and J.M. Neill:
Determination of Gases in Blood and other Solutions by Vacuum Extraction and Manometric Measurement.
J.Biol.Chem., 61, 523 (1924)
50. Snapper, J., Grünbaum, A.:
Über den Abbau von Diacetsäure und β -Oxybuttersäure in den Muskeln.
Biochem.Z., 201, 464 (1928)

51. Stern, J.R., Coon, M.J., del Campillo, A.:
Enzymes of Fatty Acid Metabolism
III. Breakdown and Synthesis of β -Keto Fatty Acids
J.Biol.Chem., 221, 1 (1956)
52. Toenniessen, E., Brinkmann, E.:
Über den Abbau der niederen Fettsäuren insbesondere
der Essigsäure und Ameisensäure im Säugetier und
über die Frage der Zuckerbildung aus Fett.
Z.physiol.Chem., 252, 169 (1938)
53. I.Ungar, M.D., M.Gilbert, M.D., A.Siegel, M.S., J.M.Blain,
M.D. and R.J.Bing, M.D.:
Studies on Myocardial Metabolism
IV. Myocardial Metabolism in Diabetes.
Am.J.of Med., 18, 385 (1955)
54. Walker, P.G.:
A Colorimetric Method for the Estimation of
Acetoacetate
Biochem.J., 58, 699 (1954)
55. Waters, E.T., Fletcher, J.P. and Mirsky, J.A.:
Relation between Carbohydrate and β -Hydroxybutyric
Acid Utilisation by Heart Lung Preparations
Am.J.Physiol., 122, 542 (1938)
56. Williamson, J.R., Krebs, H.A.:
Acetoacetate as Fuel of Respiration in the Perfused
Rat Heart
Biochem.J., 80, 540 (1961)
57. Williamson, D.H., Mellanby, J. and Krebs, H.A.:
Enzymic Determination of D(-)- β -Hydroxybutyric Acid
and Acetoacetic Acid in Blood
Biochem.J., 82, 90 (1962)
58. Zierler, K.L.:
Theory on the Use of A-V Concentration Differences
for Measuring Metabolism in steady and non-steady
state.
J.Clin.Invest., 40, 2111 (1961)

LEBENS LAUF

Am 21. Dezember 1938 wurde ich, Dieter M a a s, als Sohn des Facharztes für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten Dr. med. Paul Maas und seiner Ehefrau Tilly, geborene Opfinger, in Berlin geboren. In Krefeld besuchte ich 4 Jahre die Volksschule und anschliessend von 1949 bis 1958 das "Gymnasium am Moltkeplatz", an dem ich am 26. Februar 1958 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1958 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München das Studium der Medizin. Am 29. April 1959 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 24. Oktober 1960 die ärztliche Vorprüfung. Nach 6 klinischen Semestern an der Universität München legte ich am 18. Februar 1964 das medizinische Staatsexamen ab.

Als Medizinalassistent war ich vom 1. 4. 1964 bis 31. 12. 1964 am Pathologischen Institut der Universität München tätig. Meine weitere Medizinalassistentenausbildung habe ich seit 1. 1. 1965 an der Chirurgischen Abteilung des Krankenhauses rechts der Isar, München fortgesetzt. Ich bin verheiratet und habe eine Tochter.

